

胡新岗,吴 双,黄银云,等. 鸡源和鸽源基因 VI 型新城疫病毒对鸽的致病性比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):208-211.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.076

鸡源和鸽源基因 VI 型新城疫病毒对鸽的致病性比较

胡新岗¹, 吴 双^{1,2}, 黄银云¹, 郭广富¹

(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300;2. 江苏省动物流行病学研究中心,江苏泰州 225300)

摘要:为了比较鸡源、鸽源 VIb 亚型新城疫病毒 (NDV) 对鸽的致病性差异,选取鸡源毒株 ZJ3 和鸽源毒株 WX-10-07-Pi,分别人工感染 2 月龄试验鸽。接种后,观察试验鸽的临床症状、病理剖解变化、喉气管和泄殖腔排毒以及组织学病变情况,结果发现,2 株 NDV 均能导致接种鸽发病,发病率为 100%,死亡率为 0;WX-10-07-Pi 感染组鸽泄殖腔排毒时间长,而且病毒检出率比其他组高;此外,在接种组鸽的多种组织器官中均可检测出病毒。试验结果表明,不同基因型 NDV 对鸽均有致病性,但致病力强弱与 NDV 毒株特性有关;鸽源基因 VIb 亚型 NDV 在鸽体内可长期带毒与排毒,且更易在鸽群中传播。

关键词:新城疫病毒;基因 VI 型;鸽;致病性;鸡源

中图分类号: S855.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)04-0208-03

新城疫 (Newcastle disease, ND) 是一种急性、高度传染性疾病,已知能自然或人工感染新城疫病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 的鸟类超过了 250 种,现在已经被国际兽疫局 (OIE) 列为法定应报告的传染病^[1]。鸽子是介于家养和野生中间状态的禽类,在新城疫传播中起到重要的桥梁作用,而鸽新城疫是由鸽 I 型副黏病毒 (pigeon paramyxovirus type 1, PPMV-1) 引起的一种高度接触性传染病,是严重危害养鸽业的主要疫病之一^[2]。大多数学者认为,PPMV-1 是鸡 NDV 的一种变异株^[3],该病毒首次于 1981 年在鸽体内被分离到,其中基因 VI 型 NDV 被认为是引起 20 世纪 80 年代初期新城疫第 3 次大流行的主要毒株,并在世界范围内陆续在鸽系野禽中流行^[4]。

诸多分子流行病学研究表明,基因 VI 型 NDV 主要在鸽群中分离到,并且鸽群中分离到的 NDV 主要是基因 VIb 亚型,与当前世界上流行的优势基因 VII d 亚型并不一致^[5-6];此外,对鸡而言,鸽体内分离的强毒 NDV 一般被认为是中等毒力病毒,这在一定程度上表明基因 VIb 亚型 NDV 对其他家禽的传播能力相对有限^[7-8]。因此可以认为,基因 VIb 亚型 NDV 非常特殊、生物学意义重大,但是目前对基因 VIb 亚型病毒的研究开展得还不够深入,多局限于基因组序列测定、分析和主要蛋白的表达等层面。本试验研究鸽源、鸡源基因 VI 型 NDV 对鸽的致病性,并分析鸽感染 2 种病毒后的临床诊断症状、病理变化、排毒规律等差异,以期了解它们在病毒携带和传播中的

作用,对于基因 VI 型 NDV 的研究和控制具有一定的现实指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 毒株 基因 VIb 亚型鸡源 NDV ZJ3、基因 VIb 亚型鸽源 NDV WX-10-07-Pi 均由农业部畜禽传染病学重点开放实验室分离、纯化和保存。ZJ3、WX-10-07-Pi 均为对鸡中等毒力毒株,鸡胚半数致死量 ELD_{50} (0.1 mL 接种剂量) 毒价分别为 $10^{8.50}$ 、 $10^{8.14}$ 。

1.1.2 鸡胚及试验动物 非免疫鸡胚购自扬州市某非免疫鸡场,自行孵化到所需日龄。2 月龄非免疫美国白羽王鸽,购自江苏省江都市飞亚肉鸽养殖基地。经测定,试验前所有试验动物体内均无 NDV 和禽流感病毒抗体。

1.1.3 运输液 运输液的配制是根据 OIE 推荐的配方^[9]并稍作调整:用 pH 值为 7.2 的磷酸缓冲盐 (PBS) 溶液配制运输液,溶液中各种抗生素的剂量分别为青霉素 10 000 U/mL,链霉素 10 mg/mL,庆大霉素 250 μ g/mL,卡那霉素 250 μ g/mL;最后用 10 mol/L 浓度的 NaOH 溶液调节 pH 值,使运输液的 pH 值为 7.2。

1.2 试验方法

1.2.1 分组设计 将 20 羽 2 月龄的美国白羽王鸽分成 2 组,每组 10 羽,另取 5 羽作为阴性对照组隔离饲养,专人负责。试验组鸽每羽滴鼻、点眼接种含 1×10^6 个 ELD_{50} 病毒尿囊液。阴性对照组鸽接种同剂量的 PBS。

1.2.2 临床症状 接种后每天早晚定时观察 2 次,持续观察 30 d,记录试验鸽的临床症状及发病死亡情况。

1.2.3 喉头和泄殖腔排毒检测 接种后每天定时采集泄殖腔棉拭子及喉头棉拭子,将棉拭子放入四抗 PBS 中,保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。每份棉拭子接种 3 枚 9~11 日龄非免疫鸡胚,每 12 h 观察 1 次鸡胚,观察 120 h。弃去 24 h 内死亡的鸡胚,将 24 h 以后死亡及 120 h 以后未死亡的鸡胚置 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜后收集尿囊液,测定其血凝价。

收稿日期:2014-05-09

基金项目:国家自然科学基金 (编号:31440083);江苏省科技支撑计划 (编号:BE2012366);江苏农牧科技职业学院科研项目 (编号:YB201006)。

作者简介:胡新岗 (1974—),男,安徽宿州人,硕士,副教授,从事动物医学专业的教学、科研及高职教育管理研究。Tel: (0523) 86158089;E-mail: gxx008@qq.com。

通信作者:吴 双,博士,副教授,研究方向为动物传染病防控与流行病学。E-mail: jswshuang@sina.cn。

1.2.4 病理切片 分别于接种后 4、7、14 d,每组随机取 2 羽鸽子(对照组取 1 羽),进行病理解剖,记录剖解变化情况。采集气管、肾脏、脾脏、肺脏、肝脏、胰腺、回肠、十二指肠、胸腺 9 种组织,用 10% 福尔马林固定,按常规制作石蜡组织切片,苏木精-伊红(HE)染色,在光学显微镜下观察病理组织学变化。

2 结果与分析

2.1 临床症状

病毒接种后 3 d,WX-10-07-Pi、ZJ3 感染组仅表现出轻微的精神状态不佳。WX-10-07-Pi 组于接种后 4 d 粪便呈现墨绿色;接种后 6 d 精神不振、食欲减退,大部分病鸽表现出翅膀下垂或向两侧分开,两脚麻痹、不能站立;接种后 10 d 出现眼睑发炎、呼吸困难、咳嗽;在观察期后期,出现轻微的震颤神经症状。ZJ3 组在感染后 7 d 粪便呈水样稀粪;接种后 9 d 粪便呈墨绿色黏性稀粪;接种后 12 d 眼睑发炎、眼睛半睁半闭,呼吸困难,出现神经症状;接种后 15 d 左右,出现典型的神经症状,呈“观星姿势”;接种后 20 d 起神经症状有所缓解。在 1 个月的试验期内,试验组鸽发病率为 100%,WX-10-07-Pi、ZJ3 组均未见死亡,所有耐过的病鸽精神尚好,但明显消瘦;阴性对照组鸽无异常表现。

2.2 病理解剖学变化

WX-10-07-Pi 感染组在接种后 5 d 脾脏轻微肿大,肝边缘有出血点,气管环轻微出血;鸡接种后 11 d 气管环严重出血。ZJ3 感染组鸽在接种后 3 d 脾脏肿大,表面有针尖至粟粒大的灰白色的坏死结节或伴有出血点,肝脏稍肿;接种后 4 d 胰腺萎缩,肝脏边缘、表面及心叶有出血点和出血纹,气管充血、出血;接种后 6 d 肝脏呈土黄色。

2.3 泄殖腔和喉头排毒检测

每个泄殖腔棉拭子接种 3 枚 9~11 日龄非免疫鸡胚。结果发现,ZJ3 感染组的泄殖腔棉拭子中没有检测到病毒,而 WX-10-07-Pi 感染组的泄殖腔棉拭子中病毒分离率较高,结果见表 1。由结果还可见,ZJ3 组在接种后的 1~4 d 能检测到喉头间断性排毒,WX-10-07-Pi 组在接种后 1 至 5 d 检测到喉头持续排毒。

表 1 病毒 WX-10-07-Pi 感染后 3~17 d 泄殖腔棉拭子分离病毒结果

接种时间(d)	阳性鸽数(羽)	幸存鸽数(羽)
4	0	10
5	5	8
6	4	8
7	3	8
8	4	6
9	5	6
10	4	6
11	4	6
12	5	6
13	2	6
14	1	6
15	2	4
16	0	4
17	0	4

注:由于 ZJ3 感染组的泄殖腔棉拭子中未检测出病毒,因此未在表中列出。

2.4 病理组织学变化

接种后,WX-10-07-Pi 组鸽的脾脏、肺脏、十二指肠发生了明显的病理组织学变化,ZJ3 组的组织学病变主要为脾动脉周围淋巴鞘淋巴细胞数量减少、十二指肠绒毛黏膜层及固有层局部坏死脱落;对照鸽未见异常变化。具体组织病变详见图 1 至图 6,图 7 至图 9 为对照组肺、十二指肠、脾脏组织切片。

3 结论

不同宿主源基因 VIb 亚型 NDV 同时感染鸽的试验研究数据目前还比较缺乏,在本试验中,用鸡源毒株 ZJ3、鸽源毒株 WX-10-07-Pi 分别感染美国白羽王鸽,均未引起感染鸽的死亡;ZJ3 感染组出现疾病症状比 WX-10-07-Pi 感染组晚,但是临床症状比 WX-10-07-Pi 严重许多,尤其是相关的神经症状更为明显,试验结果与相关文献报道鸡源强毒 NDV 感染鸽未表现出任何临床症状不一致^[10]。大体病变结果表明,肝脏和脾脏是最先观察到的病变部位,随着病程发展,更多的脏器出现病变,但其出现比例和严重程度都不算很高。大体病变最明显的区别是 ZJ3 感染组中肝脏呈现土黄色的病例较多,有个别病鸽虽然临床诊断症状相当严重,但大体病变却并不显著,与文献报道的一致^[11]。

尽管 2 株病毒对鸽的致病性相当,但是 ZJ3 感染组泄殖腔却没有检测到排毒,WX-10-07-Pi 感染组的泄殖腔棉拭子中病毒分离率较高;喉头排毒检测结果表明,鸽源毒株 WX-10-07-Pi 带毒时间长且排毒率明显高于 ZJ3 感染组。这在一定程度上表明,鸽源 NDV 更容易在鸽群中传播。此外,病鸽多种组织器官出现明显的组织损伤,主要见于消化系统和免疫系统,但是出现病变的比例和严重程度都不高。WX-10-07-Pi 组的肺脏发生组织学病变,而 ZJ3 组的肺脏正常,在一定程度上说明 WX-10-07-Pi 对鸽的呼吸道亲嗜性较强。

从临床症状、泄殖腔的排毒时间以及泄殖腔的病毒检出率可以部分看出,同为基因 VIb 亚型,鸽源 NDV 比鸡源 NDV 更易在鸽群中传播。这些结果一定程度上验证了目前我国,VIb 亚型是鸽群中所特有的基因型,且鸽源分离株绝大多数属于该亚型的结论。

参考文献:

[1] Alexander D J. Newcastle disease [M]//Saif Y M, Barnes H J, Glisson J R, et al. Diseases of poultry. 11th ed. Ames: Iowa State University Press, 2003: 64-87.

[2] Alexander D J. Newcastle disease and other Paramyxoviridae infections [M]//Calnek B W, Barnes H J, Beard C W, et al. Diseases of poultry. Ames: Iowa State University Press, 1997: 541-569.

[3] Alexander D J, Russell P H, Parsons G, et al. Antigenic and biological characterization of paramyxovirus type I isolates from pigeons—an international collaborative study [J]. Avian Pathol, 1985, 14 (3): 365-376.

[4] Kaleta E F, Alexander D J, Russell P H. The first isolation of the avian PMV-1 virus responsible for the current panzootic in pigeons? [J]. Avian Pathology, 1985, 14 (4): 553-557.

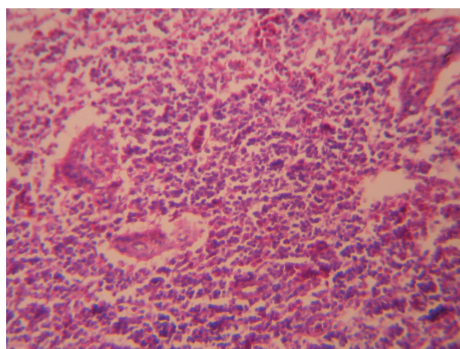


图1 WX-10-07-Pi 试验组脾动脉周围淋巴鞘
淋巴细胞数量减少(400×)

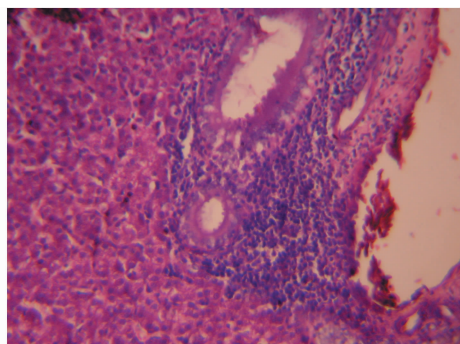


图2 WX-10-07-Pi试验组十二指肠固有层淋巴细胞浸润(400×)

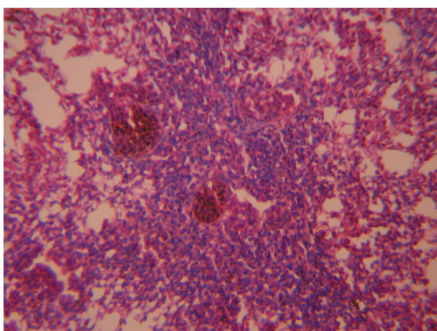


图3 WX-10-07-Pi 试验组局部肺严重充血、出血(400×)

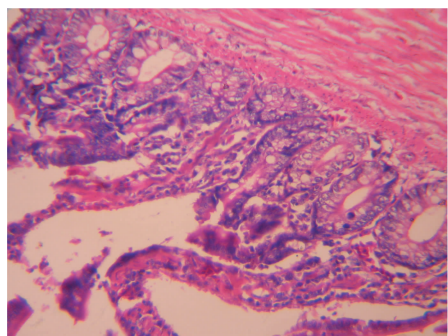


图4 ZJ3 试验组十二指肠绒毛黏膜层及固有层
局部坏死脱落(400×)

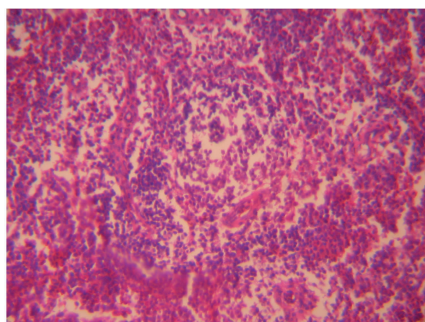


图5 ZJ3 试验组脾淋巴细胞数量减少(400×)

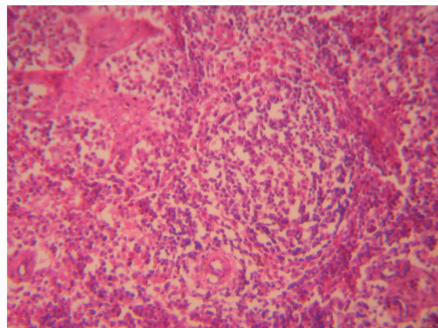


图6 ZJ3 试验组脾动脉周围淋巴鞘淋巴细胞数量减少(400×)

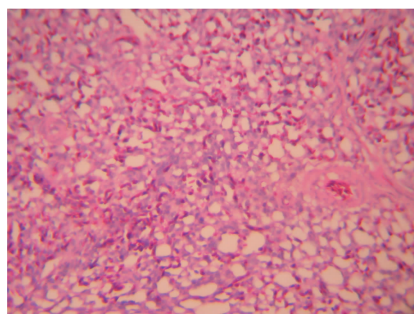


图7 对照组肺(400×)

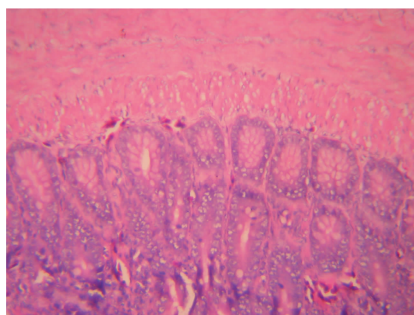


图8 对照组十二指肠 (400×)

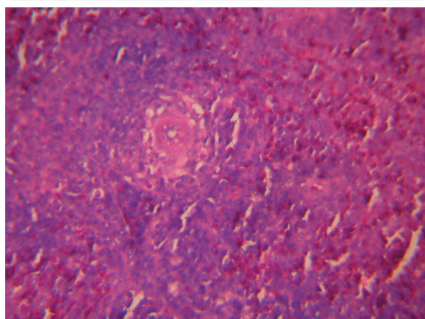


图9 对照组脾脏 (400×)

[5] Liu X F, Wan H Q, Ni X X, et al. Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1985—2001[J]. Archives of Virology, 2003, 148(7): 387—1403.

叶伟庆,陈洁波,杜炳旺. 热应激对不同日龄麒麟鸡血液生化指标的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):211-213.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.04.077

热应激对不同日龄麒麟鸡血液生化指标的影响

叶伟庆,陈洁波,杜炳旺

(广东海洋大学动物科学系,广东湛江 524088)

摘要:选用公母各 204 羽 56 日龄麒麟鸡,均分为高温组[(33±2.0)℃]、常温组[(27±2.0)℃],试验 56 d,测定麒麟鸡 84、98、112 日龄的血液生化指标。结果表明,高温热应激对麒麟鸡部分血液生化指标产生影响,且不同日龄和性别间存在差异;84 日龄公鸡总脂肪(TG)含量显著降低,公鸡乳酸脱氢酶(LDH)活性极显著降低,母鸡碱性磷酸激酶(AKP)活性极显著升高;98 日龄麒麟母鸡总脂肪含量显著降低,公鸡乳酸脱氢酶活性极显著升高;112 日龄麒麟公鸡乳酸脱氢酶活性显著降低,母鸡碱性磷酸激酶活性显著升高。

关键词:热应激;麒麟鸡;血液;生化指标;日龄

中图分类号:S831.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)04-0211-03

夏季高温对现代养鸡业产生较大影响,南方地区夏季高温高湿持续时间长,对养鸡业的影响更为明显。热应激可导致鸡只采食量和饲料效率的下降,从而影响鸡的生产性能,严重时会出现生产性能丧失甚至死亡,造成较大的经济损失^[1-2]。在热应激状态下,鸡的生理生化指标发生不同程度的变化,而血液生化指标的变化是鸡产生热应激的一个重要特征^[3],在一定程度上可以反映鸡对高温的耐受情况。姜润深等认为,热应激起始阶段血清生化指标的变化幅度与鸡的耐热性能关系密切,可评价鸡的耐热性能^[4]。

麒麟鸡别称卷羽鸡、翻毛鸡,原产于粤西地区(广东茂名信宜、高州一带),因其全身羽毛翻卷,神似麒麟而被当地人美称为麒麟鸡。麒麟鸡羽毛翻卷,部分皮肤裸露,能适应当地高温环境^[5],但耐热性能究竟如何,至今报道很少。本试验通过持续高温环境作用,研究麒麟鸡血液生化指标的变化情况,了解麒麟鸡的耐热性能,对开发利用麒麟鸡、培育我国抗热应激的优质鸡品种具有重要的意义。

收稿日期:2014-05-15

基金项目:国家农业科技成果转化资金(编号:2012GB2E000341);广东省科技攻关项目(编号:2012B020305008);广东省湛江市科技攻关项目(编号:湛财工[2012]196号)。

作者简介:叶伟庆(1989—),男,广东梅州人,硕士,从事优质鸡遗传育种研究。E-mail:1272365330@qq.com。

通信作者:杜炳旺,硕士,教授,从事优质鸡遗传育种研究。E-mail:dudu903@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养管理

1 日龄麒麟鸡雏鸡 408 羽,公母各半,由广东省湛江市晋盛牧业科技有限公司提供。笼养至 56 日龄时,分为高温组[(33±2.0)℃]、常温组[(27±2.0)℃],每组不同性别重复 3 次;再笼养 56 d,达到 56~112 日龄(16 周龄)。试验鸡按常规免疫程序接种;高温组密闭,采用电热扇加热。饲养过程中,饲喂相同的日粮,自由饮水。

1.2 试验日粮与营养水平

试验日粮由金钱(湛江)有限公司生产,其营养水平见表 1。

表 1 麒麟鸡饲养期间日粮的营养水平

日龄	代谢能 (MJ/kg)	粗蛋白质 (%)	钙 (%)	有效磷 (%)
0~28	11.66	19.90	1.00	0.37
29~84	11.98	18.00	0.90	0.33
85~112	12.11	16.98	0.86	0.33

1.3 血样采集

分别将 84、98、112 日龄空腹 12 h 后,每一重复随机选取 4 羽健康鸡,翅下静脉采血 10 mL,分离血清,进行血清成分分析。

1.4 血液生化检测指标及方法

采用 MD-100 自动生化分析仪测定谷丙转氨酶(alanine

wild North American pigeons and doves[J]. Journal of Clinical Microbiology,2008,46(10):3303-3310.

[9]王志亮,刘华雷.新城疫[M].北京:中国农业出版社,2012.

[10]de Oliveira T C A,Seki M C,de Freitas R T,et al. Experimental infection of Newcastle disease virus in pigeons (*Columba livia*): Humoral antibody response, contact transmission and viral genome shedding[J]. Veterinary Microbiology,2008,129(1/2):89-96.

[11]万洪全,刘海侠,吴力力,等. 鹅副黏病毒对鸽的致病性研究[J]. 中国兽医科技,2002,32(5):5-8.

[6]Guo H B,Liu X L,Han Z X,et al. Phylogenetic analysis and comparison of eight strains of pigeon paramyxovirus type 1 (PPMV-1) isolated in China between 2010 and 2012[J]. Archives of Virology,2013,158(6):1121-1131.

[7]Aldous E W,Fuller C M,Ridgeon J H,et al. The evolution of pigeon paramyxovirus type 1 (PPMV-1) in Great Britain:A molecular epidemiological study[J]. Transboundary and Emerging Diseases,2014,61(2):134-139.

[8]Kim L M,King D J,Guzman H,et al. Biological and phylogenetic characterization of pigeon paramyxovirus serotypes 1 circulating in